

HYPERCAPNIE CHRONIQUE EXPÉRIMENTALE ET MESURE DU GAZ CARBONIQUE TISSULAIRE CHEZ LE RAT

E. REICHART*

Les hypercapnies expérimentales de courte durée par exposition à un mélange enrichi de CO_2 ont été pratiquées depuis longtemps. En effet, COLLARD de Martigny, en 1827, s'exposait volontairement à du gaz carbonique. Par la suite, les recherches sur les régulations ventilatoires ont motivé de nombreuses expérimentations au cours desquelles l'homme ou l'animal inhalait un mélange enrichi en CO_2 . Le taux de gaz carbonique était généralement modéré, inférieur à 10 p. 100, et le temps d'inhalation du mélange gazeux de quelques minutes. Par contre, les expériences de longue durée visant à étudier les réactions métaboliques de l'organisme et le stockage du CO_2 dans les tissus ont été beaucoup moins souvent réalisées. K.-E. SCHAEFER, W.-B. SCHWARTZ et leurs groupes respectifs ont étudié les effets de l'inhalation de mélange gazeux contenant de faibles quantités de CO_2 sur l'homme et, en particulier, le retentissement sur les électrolytes sanguins et urinaires. Ces expériences chroniques chez l'homme nécessitent des chambres à hypercapnie tandis que leur réalisation chez les petits animaux peut être faite avec des moyens techniques beaucoup plus modestes.

Dans le but d'évaluer l'importance du stockage du CO_2 au niveau des tissus, des rats ont été placés dans une atmosphère artificielle enrichie de gaz carbonique où l'oxygène était maintenu à un taux voisin de la normale tandis que le CO_2 était généralement compris entre 7 et 8 p. 100. Après un séjour de 2 à 11 semaines, les animaux étaient sacrifiés et le CO_2 total de leur organisme était mesuré par un procédé original. Pour désigner les atmosphères enrichies de gaz carbonique, il nous a semblé logique d'employer le terme hypercarboxie ainsi que le propose STUFFEL. Cette terminologie désigne la présence en excès des éléments carbone et oxygène tandis que le terme classique d'hypercapnie sera réservé à l'augmentation du CO_2 au niveau des tissus et de l'organisme dans son ensemble.

* Attaché de recherches au C.N.R.S.

Chaire de Physio-pathologie respiratoire, Faculté de Médecine, 54 - Nancy.

Reçu pour publication le 15 juin 1967; accepté le 13 juillet 1967.

MÉTHODES

Enceinte hypercarboxique.

La réalisation d'une hypercarboxie prolongée exige un dispositif spécialement conçu à cet effet. Les caractéristiques techniques et le fonctionnement du dispositif utilisé ont été décrits ailleurs (REICHART, 1966); il permet de soumettre à une exposition prolongée et continue de petits animaux dans une atmosphère enrichie de gaz carbonique tandis que le taux d'oxygène est gardé voisin de 21 p. 100 afin de ne pas induire une hypoxie. Il comprend essentiellement (fig. 1):

- Une enceinte étanche, munie d'un sas et de gants pour permettre la manipulation, le retrait ou l'introduction des animaux.
- Une alimentation en O_2 et CO_2 ainsi qu'un échappement des gaz hors de l'enceinte.
- Un groupe comprenant un thermostat et un ventilateur assurant une atmosphère artificielle homogène.
- Un analyseur à O_2 et CO_2 pour le contrôle de la composition gazeuse.
- Un dispositif réglant l'humidité de l'atmosphère (condenseur d'eau).

L'adjonction au dispositif, primitivement décrit, d'un mécanisme régulant le gaz carbonique a permis de maintenir la composition gazeuse, la valeur désirée à ± 1 p. 100 près. Les caractéristiques du groupe conden-

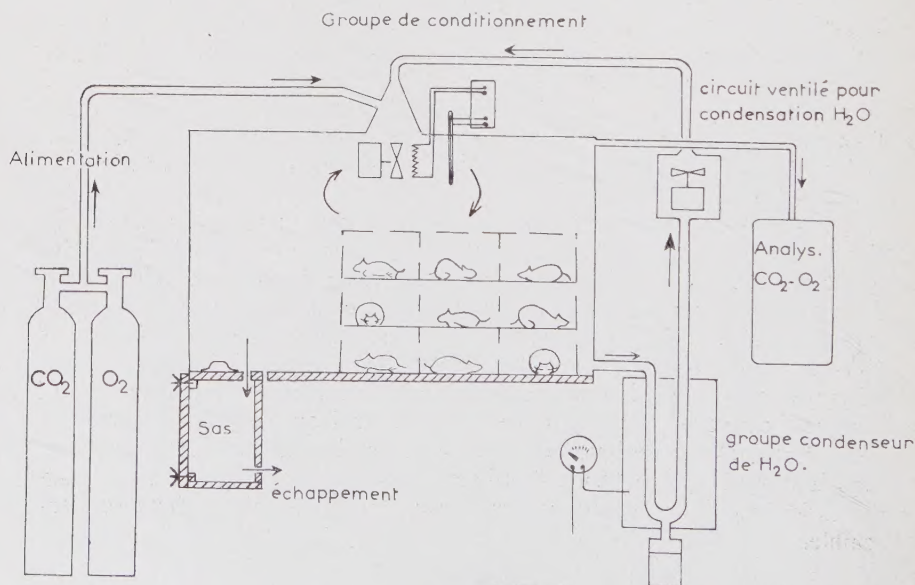


FIG. 1.

Schéma de l'enceinte à hypercapnie.

seur d'eau rendent possible l'hébergement d'une trentaine de rats sans augmenter la température (23 à 26°) intérieure de l'enceinte. L'appareil fonctionne en service continu.

Mesure du CO₂ tissulaire.

La mesure du CO₂ au niveau des tissus est un problème délicat qui a été résolu de diverses façons par les chercheurs qui nous ont précédés. L'analyse des gaz du sang ou des autres liquides organiques ne permet pas d'évaluer avec certitude la quantité de CO₂ fixée par les tissus. L'emploi, in situ, en divers points de l'organisme, d'électrodes sensibles au gaz carbonique reste délicat et permet seulement d'évaluer la pression partielle de CO₂ au niveau d'une zone limitée. L'Ecole de RAHN a largement utilisé la technique des poches gazeuses créées par injection en un point de l'organisme. Lorsque le gaz contenu dans la poche s'est équilibré avec la pression partielle des tissus avoisinants, une analyse du gaz prélevé dans la poche, permet de connaître cette pression partielle. Malheureusement, cette technique comme la précédente ne permet pas de connaître la quantité totale de CO₂ contenue dans les tissus, sous forme combinée. De plus, la méthode des poches gazeuses n'est pas réalisable au niveau de tous les organes.

Pour déterminer le CO₂ total fixé par l'organisme, une autre méthode consiste à mesurer, par analyse des gaz expirés, la quantité de CO₂ rejetée par l'individu avant et pendant l'inhalation d'un mélange hypercarboxique. A partir de ces mesures, la quantité de CO₂ contenue dans l'organisme peut être calculée (BROCKLEHURST et coll., 1927; ROSENBAUM, 1942; FAHRI et coll., 1955; JENNINGS, 1966).

Les méthodes de mesure du CO₂ total varient selon les auteurs. Le broyage des tissus a été utilisé par FENN en 1928. D'autres auteurs ont préféré une histolyse acide (DANIELSON et coll., 1939) ou alcaline (ANREP et coll., 1936) à froid ou même à chaud (FREEMAN, 1953). Le CO₂ est extrait sous vide (VAN SLYKE et coll., 1924; FERGUSON et coll., 1929). Il est, soit mesuré directement, soit fixé par une substance chimique ultérieurement analysée. La mesure manométrique est faite avec l'appareil de VAN SLYKE. Parfois le dosage est volumétrique (FERGUSON et coll., 1929; CONWAY, 1944) ou titrimétrique (FENN, 1928; KROGH et coll., 1930).

La technique que nous avons utilisée a été décrite dans une publication antérieure (REICHART, 1965); elle comporte essentiellement:

- une destruction à chaud de l'échantillon biologique par de l'acide sulfurique qui libère le CO₂;
- la fixation du CO₂ dans une solution normale de soude;
- le dosage titrimétrique par une solution normale d'acide chlorhydrique des bicarbonates ainsi formés dans la solution sodique.

L'histolyse de l'échantillon et la fixation du CO₂ requièrent un dispositif spécial (REICHART, 1965). Cette technique est utilisée pour doser

le CO_2 contenu dans l'organisme entier du rat. Elle est également employée pour le dosage du CO_2 contenu dans la carcasse (squelette et muscles squelettiques), dans les viscères ainsi que dans les organes isolés, moyennant quelques modifications. La carcasse et la masse viscérale sont détruites à l'aide de 100 ml de H_2SO_4 ; le CO_2 extrait est fixé dans 100 ml de NaOH N. Les organes sont histolysés dans des micro-dispositifs en présence de 10 ml de H_2SO_4 concentré; 50 ml de NaOH N constituent l'absorbeur de CO_2 . L'histolyse est faite immédiatement. Elle dure 9 h. 30 pour les animaux entiers ou les échantillons de carcasse et viscères; elle est poursuivie pendant 6 heures au moins lorsqu'il s'agit d'organes isolés.

Le titrage des bicarbonates présents dans la solution sodique a été généralement réalisé manuellement pour les animaux entiers; tandis que pour les organes isolés, et certains animaux entiers, un titrateur automatique (Radiometer) a été utilisé.

Protocole expérimental.

Pour la mesure du CO_2 contenu dans l'organisme entier, le rat est laissé à jeun durant 24 à 48 heures. Il est pesé, assommé et introduit dans le dispositif à histolyse. Pour le rat normocapnique, ces manipulations se font à l'air, pour le rat hypercapnique, elles sont faites dans une atmosphère hypercarboxique correspondant à celle dans laquelle il était placé. Les modalités d'histolyse et de dosage du CO_2 total sont identiques, dans les deux cas.

Les dosages de CO_2 dans les divers territoires de l'organisme ont porté sur la carcasse (peau, muscle et squelette), la masse viscérale dans son ensemble ou sur des organes isolés (foie, reins, cœur, encéphale, os [fémurs]) ou muscles squelettiques (abdomen, membres postérieurs). L'animal mis à jeun, est anesthésié et disséqué à l'air lorsqu'il s'agit d'un rat normal, en atmosphère hypercarboxique pour les rats hypercapniques.

Les mesures de CO_2 sanguin ont été faites sur des échantillons de 1,8 à 2 ml de sang prélevés au niveau de la veine cave inférieure sur l'animal légèrement anesthésié et ouvert ventralement. Le sang recueilli à l'abri de l'air est additionné de traces d'héparine. Le pH est mesuré sur sang total (microélectrode thermostatée à 38°C), le CO_2 mesuré sur plasma (microgazomètre NATELSON), la pression partielle calculée selon l'équation de HENDERSON - HASSELBALCH avec un pK de 6,105 et en considérant que la température du rat est de 38° .

RÉSULTATS

I. — CONSÉQUENCES BIOLOGIQUES DE L'EXPOSITION DES ANIMAUX AU CO_2

Réactions immédiates:

Dès l'introduction de la cage dans l'atmosphère hypercapnique, le rat explore sa cage bien qu'elle lui soit familière; il semble réagir à l'odeur des congénères déjà présents dans l'enceinte.

Dans les 10 à 20 minutes au maximum qui suivent son entrée, le rat se frotte le museau et fait « sa toilette ». Cette réaction est due à l'action directe du CO₂ sur les téguments les plus fragiles tels que les paupières, le museau et les oreilles. Pour une concentration comprise entre 7 et 9 p. 100, le rat hyperventile visiblement après 15 à 30 minutes environ. L'amplitude et la fréquence ventilatoires sont augmentées. Pendant plusieurs heures, l'animal hyperventile le cou tendu, immobile; puis il prend

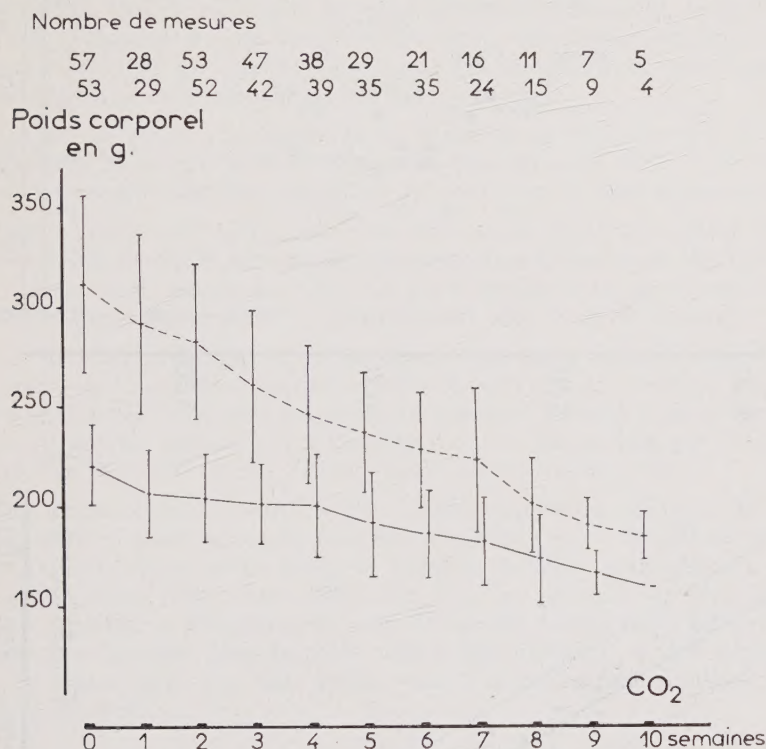


FIG. 2.

Les rats les plus lourds (P supérieur à 250 g) initialement maigrissent davantage que les animaux les plus légers (P inférieur à 250 g) à l'origine. Valeurs moyennes et écarts-types pour un taux de CO₂ égal à 7-9 pour cent.

une attitude de sommeil, se roule en boule, cache son museau entre ses membres antérieurs et ramène sa queue le long du corps. Certains animaux conservent cette attitude ramassée tandis qu'ils hyperventilent régulièrement; d'autres se remettent durant quelques minutes en extension tandis que l'amplitude respiratoire augmente. L'hyperventilation apparente disparaît au cours des 24 premières heures. La vasodilatation sanguine est visible sur les paupières, les oreilles, le museau et la queue.

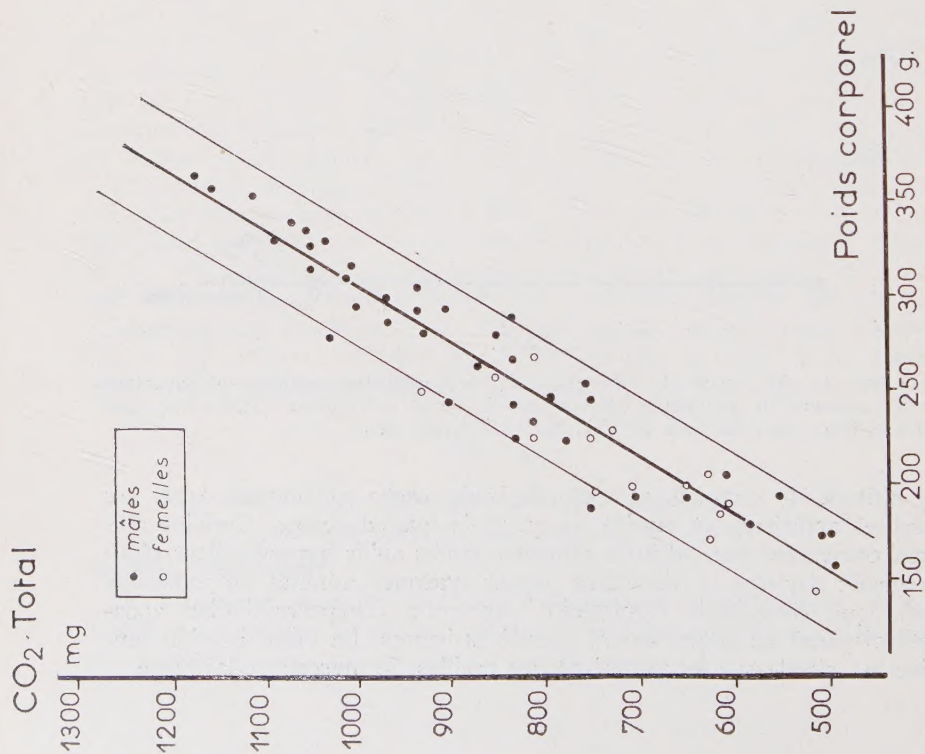


Fig. 3.

Le CO₂ total de l'organisme du rat normal est une fonction linéaire du poids. Droite moyenne de CO₂ par gramme (ou teneur). Les points se groupent bien entre les droites $\bar{x} + 1\sigma$.

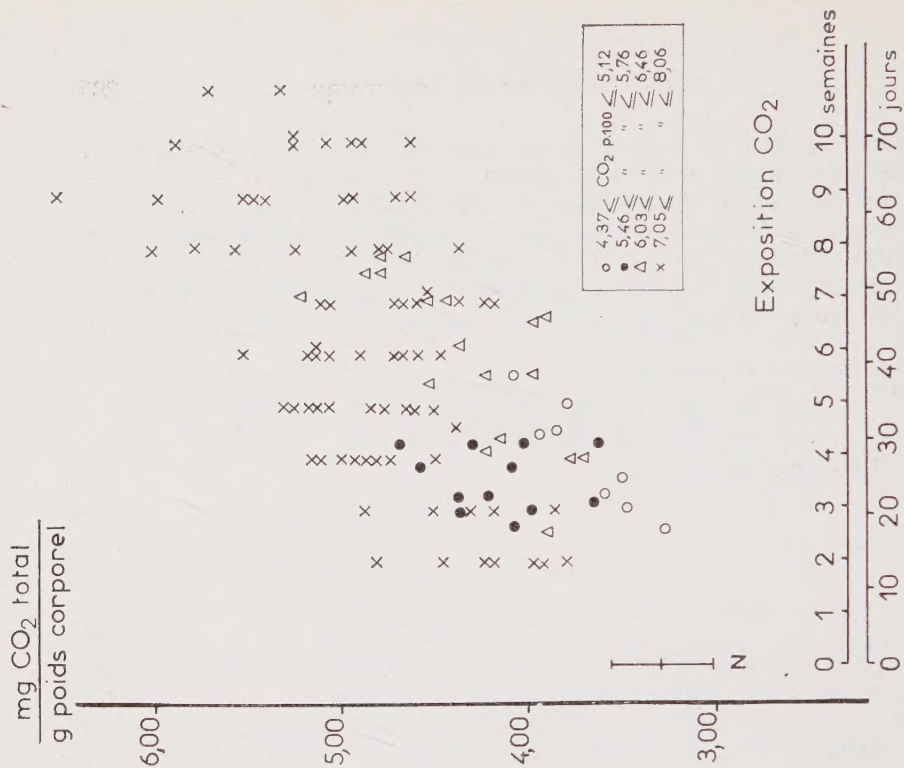


Fig. 4.

La teneur corporelle en CO₂ croît avec la durée de l'hypercarboxie. Comparaison des résultats obtenus à divers taux de CO₂ avec les valeurs (moyenne + 1 σ) données chez les normaux (N).

Réactions consécutives à l'exposition prolongée au CO_2 .

Après 48 heures d'exposition au CO_2 , les paupières et le museau, quelquefois les oreilles sont irrités par le contact du CO_2 . Les animaux réagissent en se frottant; certains d'entre eux semblent plus sensibles que d'autres. La friction répétée peut entraîner des lésions nasales et palpébrales.

La propension à dormir, témoin d'une légère carbonarcose, est générale, même chez les animaux les plus jeunes dont l'activité, la promptitude à s'échapper lorsque l'on veut les saisir, sont fortement diminuées; l'instinct du jeu est pratiquement nul. Les mouvements sont lents et la « toilette » est l'essentiel de ces rares activités.

Le rat change de comportement à l'égard de sa nourriture; après une période de 24 heures où il ne consomme pratiquement rien, le rat manifeste un appétit médiocre, gaspillant la nourriture à demi-consommée.

Six animaux sont morts sans présenter aucun signe de maladie infectieuse. Cette mortalité sans raison apparente représente moins de 3 p. 100 de l'effectif total exposé au CO_2 . La mort est survenue après une durée variable d'exposition au CO_2 , généralement aux 4^e et 8^e semaines.

L'exposition prolongée au CO_2 entraîne une perte de poids qui affecte au cours de la première quinzaine, très souvent dès la première semaine d'exposition au CO_2 , tous les animaux présents. L'étude d'un groupe de rats (76 sujets) soumis à une concentration de gaz carbonique comprise entre 7 et 9 p. 100 montre l'évolution de cette perte de poids.

Les animaux initialement les plus lourds maigrissent plus que les animaux dont le poids corporel initial était moindre (moins de 250 grammes) (fig. 2); il en est de même lorsqu'on exprime la chute pondérale en p. 100 du poids initial (REICHART, 1966). En fait, les animaux les plus lourds (poids supérieur à 250 grammes) sont des sujets dont le poids était stable, tandis que les rats dont le poids initial était inférieur à 250 grammes étaient avant tout des rats jeunes dont l'accroissement pondéral était encore en cours.

II. — MESURE DU CO_2 TISSULAIRE

Contenu total en CO_2 du corps, chez le rat normal.

La mesure du gaz carbonique contenu dans l'organisme entier de rats normaux, vivant à l'air libre, montre que le CO_2 total de l'organisme est une *fonction linéaire* du poids corporel (REICHART, 1965) (fig. 3). Il est donc possible de définir une *teneur moyenne* en gaz carbonique de l'organisme du rat, soit la quantité de CO_2 total rapportée à un gramme de poids corporel.

Mesurée chez 54 rats (40 mâles et 14 femelles), pesant de 142 à 365 grammes, la teneur corporelle est en moyenne de 3,29 mg de CO_2 par

gramme de poids (amplitude 2,86 à 4,04; $\sigma = 0,27$). Ceci confirme le résultat précédemment trouvé sur 28 d'entre eux (REICHART, 1965).

Teneur corporelle en CO_2 du rat vivant en hypercarboxie.

Chez les rats vivant dans une atmosphère enrichie de CO_2 , la teneur corporelle en CO_2 dépasse la valeur moyenne établie chez les animaux témoins et *croît avec la durée de l'hypercarboxie*. Déjà constaté sur les animaux exposés à une concentration de gaz carbonique inférieure à 7

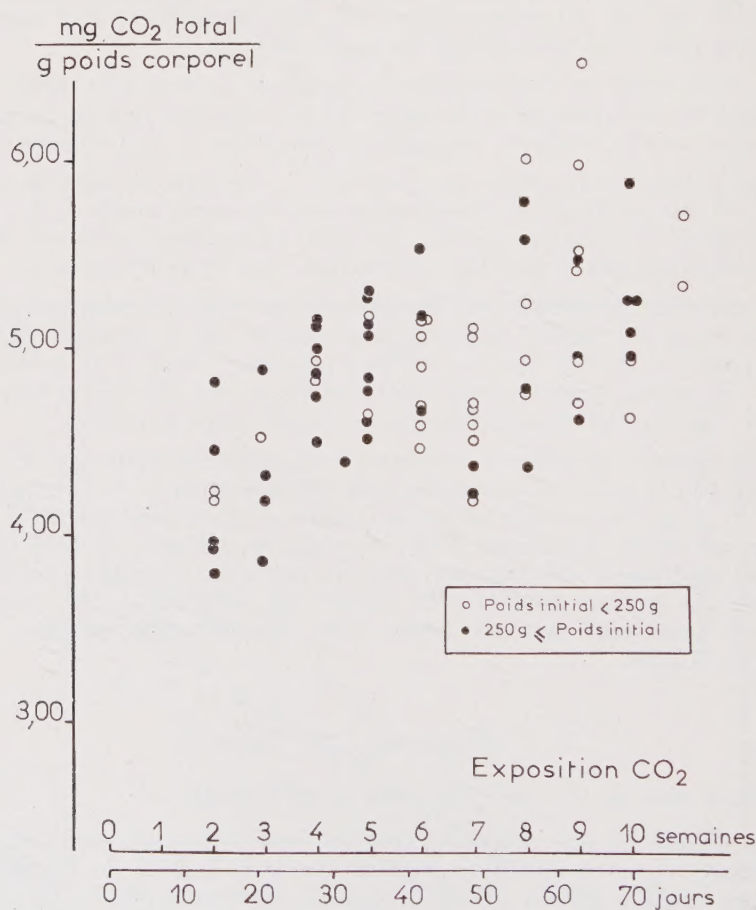


FIG. 5.

Le poids corporel initial (P supérieur ou inférieur à 250 g) n'influe pas sur le résultat exprimant la teneur corporelle en CO_2 . Les animaux les plus lourds initialement se répartissent au hasard parmi 52 animaux exposés à 7-8 pour cent de CO_2 .

p. 100, le phénomène est net pour les animaux exposés à 7 - 9 p. 100 de CO₂ (fig. 4). Dans l'ensemble, les animaux exposés à ces concentrations ont une teneur corporelle en gaz carbonique plus grande que les rats exposés à moins de 7 p. 100 de CO₂ (REICHART, 1966). L'accroissement de la teneur corporelle en gaz carbonique se poursuit jusqu'à la 11^e semaine d'hypercarboxie, durée limite des expositions rapportées ici, ce qui confirme les observations faites précédemment pendant 9 semaines (REICHART, 1966). Le poids initial n'intervient pas sur les résultats exprimant la teneur corporelle en CO₂. Les animaux parmi les plus lourds à l'origine, se répartissent au hasard parmi les plus légers (fig. 5) comme le montre l'examen fait sur 52 animaux dont les poids lors de la mise à mort variaient de 135 à 300 grammes. Une étude statistique portant sur 114 rats exposés à des taux de CO₂ compris entre 4 et 9 p. 100 a montré une corrélation significative ($r = 0,537$, $p < 0,001$) entre la teneur corporelle et le temps que dure l'hypercarboxie.

Sang. Les résultats sont consignés sur un diagramme CO₂ total/pH (fig. 6). Les rats normocapniques se répartissent dans une zone de Pco₂ veineuse comprise entre les isobares 30 et 50 mmHg et des valeurs de pH allant de 7,28 à 7,44 unités pH. Le point moyen calculé correspond

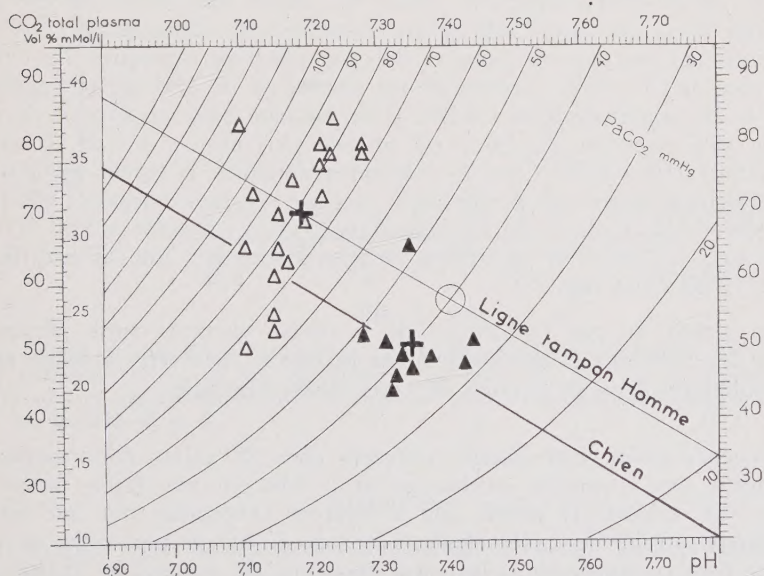


FIG. 6.

L'hypercapnie induite est visible dans le sang. Les valeurs moyennes de chaque groupe, groupe témoin et rats hypercapniques, sont représentées par une croix. Les lignes tampon du sang de l'homme et du chien sont mentionnées à titre indicatif; celle du rat ne nous est pas connue.

à un pH de 7,35 et à une valeur de CO_2 total de 50,18 volumes p. 100; la Pco_2 moyenne est de 41 mmHg. La moyenne des hémocrites est de 48.

Pour 21 rats ayant vécu de 4 à 14 jours en hypercarboxie, la dispersion est plus accusée. La Pvco_2 est généralement comprise entre 70 et 90 mmHg. La moyenne des Pco_2 est de 80 mmHg avec un pH égal à 7,19, un CO_2 total de 70,13 volumes p. 100. L'hématocrite n'a pas varié significativement, la moyenne est à 46.

Parmi les rats hypercapniques, les pH les plus élevés correspondent aux animaux exposés le plus longtemps. Une alcalose métabolique de compensation à l'acidose hypercapnique apparaît pendant les 14 premiers jours d'exposition à 7 - 9 p. 100 de gaz carbonique.

Carcasse. Avant de mesurer le gaz carbonique fixé dans chacun des organes principaux (foie, encéphale, rein, muscle cardiaque) ou dans un échantillon (muscle squelettique, squelette), nous avons recherché en première approximation dans quel territoire de l'organisme, carcasse ou masse viscérale, le CO_2 est fixé préférentiellement.

Chez le rat normal, le contenu en gaz carbonique et le poids de la carcasse sont des grandeurs grossièrement proportionnelles: il est donc licite, comme pour l'organisme entier, de définir une *teneur* en gaz carbonique de la carcasse. Cette proportionnalité est retrouvée chez les rats amaigris par une cure de jeûne et chez les rats hypercapniques. La teneur moyenne en CO_2 de la carcasse du rat normal est de 3,84 mg par gramme ($N = 13$, amplitude 3,34 à 4,90). Celle obtenue pour un groupe de rats ayant subi une cure de jeûne est un peu plus élevée, à 4,25 (6 sujets amplitude 3,93 à 4,55). Chez les rats hypercapniques, la teneur en CO_2 est généralement supérieure à celle de la carcasse des rats normaux: elle tend à s'élever avec la durée de l'hypercarboxie (fig. 7) passant à 5,08 (amplitude 4,65 à 5,76) pour un groupe de 7 rats soumis à une hypercarboxie de 15 à 30 jours (fig. 7).

La teneur en gaz carbonique de la masse viscérale varie largement selon les individus et aucune relation valable ne peut être retenue entre le contenu en CO_2 et le poids de cette masse viscérale.

Organes isolés. Les dosages effectués chez 25 sujets normocapniques montrent que le muscle squelettique et le foie ont une faible teneur en CO_2 (Cf. tableau 1) tandis que le rein et l'encéphale ont une teneur moyenne sensiblement plus élevée. L'organe de loin le plus riche en CO_2 est le tissu osseux puisque la teneur moyenne est voisine de 35 mgr par gramme d'os. Mais pour tous les organes considérés, les dispersions autour de ces moyennes, sont importantes.

Pour juger des modifications survenant au cours de l'hypercapnie, 25 animaux ont été placés en hypercarboxie durant 1 à 8 semaines, le taux de CO_2 étant maintenu entre 7 et 9 p. 100. Le tableau 1 résume les résul-

tats observés; au sein de chaque groupe, la dispersion des résultats apparaît considérable, les taux allant très souvent du simple au double, ou bien davantage, en particulier en ce qui concerne le cœur et l'encéphale.

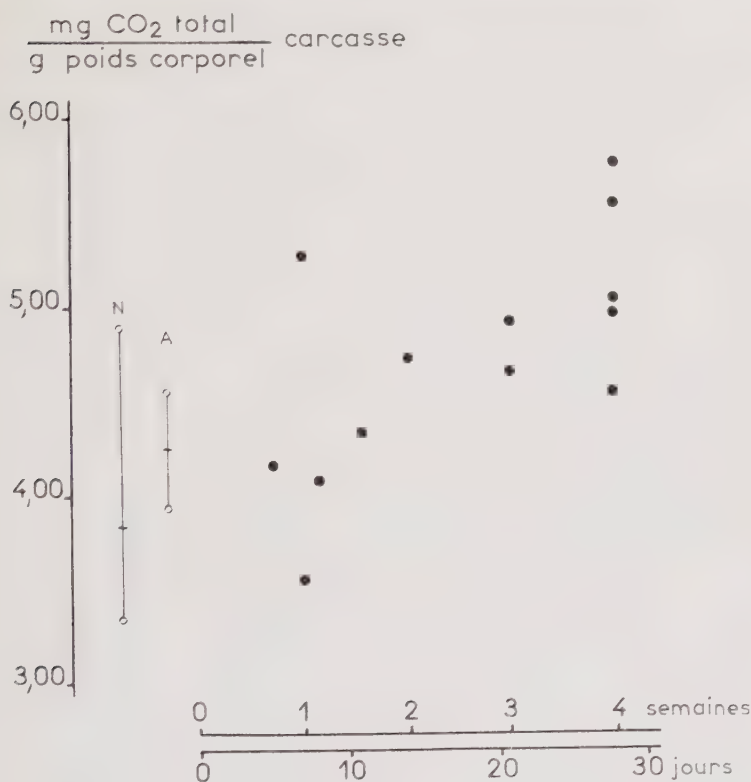


FIG. 7.

La teneur en CO₂ de la carcasse de rats hypercapniques est comparée à celle de rats normaux (N) et de rats amaigris à l'air libre (A). La valeur moyenne est portée sur un segment (amplitude) joignant les valeurs extrêmes observées dans chacun des groupes A et N.

DISCUSSION

Il semble inutile de commenter longuement certaines données classiques retrouvées au cours de cette série d'expériences. L'augmentation de l'amplitude et de la fréquence ventilatoire n'est nullement surprenante et l'action locale du CO₂ sur les téguments est un phénomène bien connu. L'attitude ramassée que prend après quelque temps le rat, et une certaine inactivité peuvent être attribués à une carbonarcose légère. Cependant, on peut aussi discuter le rôle d'une hypothermie qui existe chez le rat

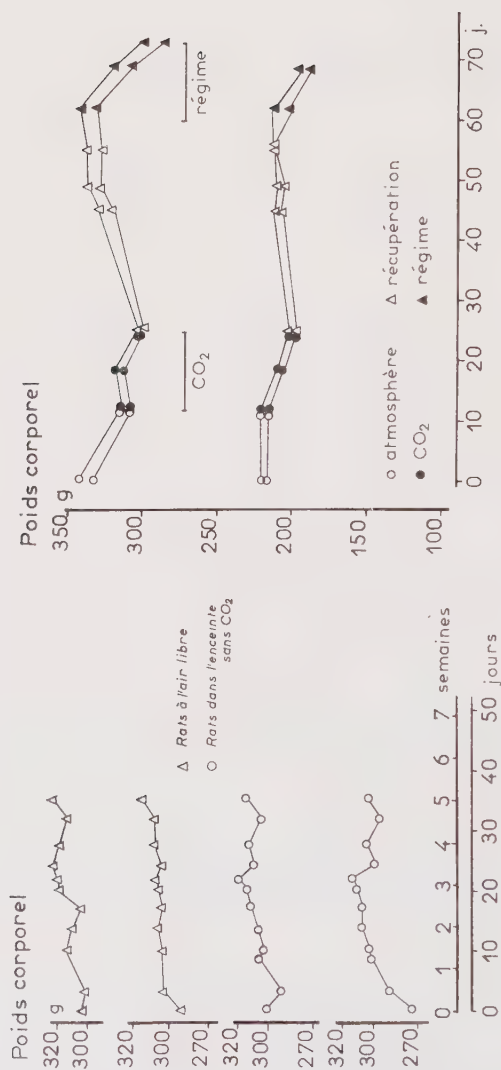


FIG. 8.

Les rats vivant dans l'enceinte en l'absence de CO₂ ne maigrissent pas. Leur poids corporel est aussi stable que celui des témoins vivant à l'air libre. Une baisse pondérale est observée en présence de CO₂. Remis à l'air, les rats reprennent du poids. Une réduction de nourriture comparable à celle observée en hypercapnie détermine à l'air libre une perte de poids équivalente.

TABLEAU I

Teneur en CO₂ des divers organes (mg/g)

Valeurs moyennes minima et maxima - moyennes et écart-type de groupes

	Nbre	Muscle	Foie	Encephale	Os	Coeur	Rein
<u>NORMAUX</u>							
$\bar{x}$	25	2,060 (0,970) (5,832)	2,843 (1,434) (6,442)	7,539 (4,521) (16,656)	34,879 (27,094) (47,073)	voir texte	7,124 (4,652) (10,676)
σ		1,19	1,34	8,11	6,53		2,34
v		0,57	0,47	0,41	0,19		0,31
<u>1er MOIS DE CO₂</u>							
1e semaine	4	1,665 (1,008) (2,228)	2,683 (1,711) (3,635)	5,486 (4,363) (7,264)	29,631 (25,650) (32,830)	13,983 (11,900) (16,992)	7,722 (4,760) (15,041)
2e semaine	4	1,800 (1,148) (2,259)	2,795 (1,295) (4,759)	7,500 (5,642) (10,876)	34,331 (25,834) (48,904)	13,320 (11,415) (15,404)	8,300 (3,916) (12,222)
3e semaine	4	1,957 (1,566) (2,159)	4,188 (3,076) (5,772)	11,182 (5,068) (26,623)	35,008 (31,196) (37,884)	10,839 (7,646) (12,079)	4,724 (3,597) (6,550)
4e semaine	3	1,713 (1,094) (2,083)	3,695 (2,549) (5,027)	6,136 (4,205) (8,752)	32,532 (27,147) (39,112)	12,019 (11,232) (13,243)	6,457 (5,977) (6,853)
$\bar{x}$	15	1,345	3,112	7,351	32,677	14,678	6,624
σ		0,58	1,20	5,26	5,91	10,13	3,41
v		0,31	0,36	0,72	0,18	0,69	0,52
<u>2e MOIS DE CO₂</u>							
5e semaine	5	1,933 (1,638) (3,178)	3,277 (2,550) (4,256)	5,970 (4,137) (8,440)	36,260 (29,363) (43,110)	11,094 (5,400) (18,269)	5,658 (4,349) (8,326)
6 - 7 - 8e semaines	5	2,417 (1,461) (2,942)	5,475 (2,752) (13,260)	6,094 (4,655) (8,244)	35,462 (32,080) (39,500)	10,726 (8,437) (11,127)	7,563 (4,268) (15,781)
$\bar{x}$	10	2,297	4,500	6,243	36,583	13,784	6,865
σ		0,61	3,34	1,35	4,25	8,19	3,83
v		0,26	0,74	0,45	0,12	2,73	1,56

placé en hypercarboxie (STUFFEL, 1959). Les deux faits les plus intéressants à discuter sont certainement l'amaigrissement et la rétention tissulaire de CO_2 .

Origine de l'amaigrissement des rats hypercapniques.

La conséquence la plus évidente de l'exposition du rat à une atmosphère artificielle riche en CO_2 est l'amaigrissement noté pour tous les animaux; il se manifeste quel que soit le sexe ou le poids initial. Il ne saurait être dû à un mauvais état général pré-existant; les animaux maigrissent dès leur entrée en atmosphère hypercarboxique, alors que, observé pendant 10 et 12 semaines qui précèdent, le poids corporel était constant ou en augmentation. Lorsqu'un animal est retiré de l'enceinte, l'amaigrissement cesse et le poids revient en quelques semaines à sa valeur antérieure.

Les causes susceptibles d'entraîner un tel amaigrissement sont nombreuses et variées. Il convient d'abord de vérifier que la perte de poids est bien due à l'hypercarboxie elle-même. Les rats sont plus ou moins sensibles aux conditions d'environnement et d'élevage. Les animaux utilisés sont tous issus d'un même élevage. La période de préparation à l'hypercarboxie accoutume le rat à sa cage d'expérimentation, à sa mangeoire et à son compagnon. Les conditions d'environnement général: lumière, bruits, etc... sont semblables à celles de l'enceinte hypercarboxique. Lorsque le rat est introduit dans cette enceinte, seuls les facteurs climatiques, humidité relative et température, sont en effet différents.

Pour évaluer l'importance de ces facteurs, des animaux témoins ont été exposés pendant 5 semaines dans la même enceinte mais en air, le gaz carbonique rejeté par les rats étant absorbé continuellement. Les conditions étaient alors rigoureusement superposables sauf en ce qui concerne l'hypercarboxie; la température et l'humidité étaient identiques. Le poids corporel de ces animaux est resté stable comme celui d'animaux homologues (frères, sœurs et animaux du même âge) vivant à l'air libre (fig. 8).

Une éventuelle impureté apportée par les mélanges gazeux de qualité industrielle introduits dans l'enceinte (gaz carbonique et O_2) ne peut être envisagée. En effet, des animaux hypercapniques ont vécu des semaines, voire des mois dans un milieu dont le gaz carbonique était celui qui était émis par eux-mêmes et l'amaigrissement se produisait néanmoins. L'emploi d'oxygène de qualité médicale au lieu de l'oxygène industriel n'a pas eu d'effets.

Le renouvellement fréquent ou non du noir animal destiné à fixer les produits volatiles organiques présents dans l'atmosphère artificielle, n'a pas eu d'influence. Il apparaît que seul le gaz carbonique, par sa présence, est responsable de l'amaigrissement.

La perte de poids est décelée dès que la concentration de CO_2 dépasse 4 p. 100. Elle s'accroît avec la durée de l'hypercarboxie mais aucune relation nette n'a pu être établie entre la perte du poids corporel et la concentration du CO_2 ambiant.

Pour expliquer le mécanisme de l'amaigrissement sous l'influence du CO₂, on peut formuler plusieurs hypothèses : altération des grands métabolismes, inappétence liée ou non à des troubles centraux, troubles de l'absorption digestive, etc...

Pour certains auteurs, le sujet mis en hypercarboxie présente une diminution de la prise d'oxygène (BARBOUR et coll., 1943 ; SCHAEFER et coll., 1949). Cette diminution de la prise d'oxygène témoignerait d'une baisse du métabolisme, mais ce résultat est contesté par STUFFEL (1960).

La perte de poids des rats hypercapniques pourrait être impliquée pour une part à une perte d'eau. Selon STUFFEL (1960), les pertes hydriques par évaporation sont inchangées lors de l'exposition du rat à 10 p. 100 de gaz carbonique. Par contre, la perte d'eau par les voies urinaires et l'ingestion d'eau semblent perturbées par l'hypercapnie (SCHAEFER, 1949). Pour juger l'importance de ces troubles d'apport et d'élimination de l'eau, un bilan hydrique a été fait durant plusieurs semaines chez les animaux hypercapniques. La consommation en eau diminue durant les premières semaines. Cet abaissement est modéré, il s'échelonne entre 1,5 à 13,5 p. 100 pour six rats mâles surveillés strictement. Les variations de l'élimination urinaire sont plus nettes puisque la diurèse est pratiquement toujours augmentée. Au cours des quatre premières semaines d'hypercarboxie, le volume d'urine augmente de 8,8 à 114 p. 100 par rapport à sa valeur mesurée à l'air libre. Cette augmentation de la diurèse persiste, quoique moins importante, dans les semaines qui suivent. Ces perturbations hydriques sont réversibles et disparaissent lorsque le rat est revenu à l'air libre. Quoi qu'il en soit, ces anomalies ne semblent pas suffisamment importantes pour expliquer à elles seules l'amaigrissement retrouvé chez tous les animaux.

L'inappétence des rats exposés au CO₂ est évidente ; lorsque l'on observe l'animal, elle va de pair avec la baisse de l'activité générale signalée antérieurement. Cette inappétence a d'ailleurs été signalée par LEVITIN et coll. (1961). Afin d'évaluer l'importance de cette anorexie, la prise journalière de nourriture d'un groupe de rats a été vérifiée pendant 10 à 12 jours d'observation à l'air libre puis les animaux ont été placés pendant 10 à 12 jours dans une atmosphère contenant 7 à 8 p. 100 de gaz carbonique. Les rats ont réduit leur prise de nourriture journalière, la baisse d'alimentation étant variable selon les sujets. Au cours de l'hypercarboxie, la quantité de nourriture absorbée représentait 40 à 75 p. 100 de la nourriture ingérée à l'air (REICHART, 1966). Revenus à l'air libre, ces animaux ont repris leur poids antérieur. Lorsque le poids corporel était revenu à sa valeur primitive, ces rats ont été astreints à une réduction de nourriture comparable à celle enregistrée lors de l'hypercarboxie. La baisse de poids corporel qui en a résulté est égale ou même un peu plus importante à celle observée sous CO₂. De plus, les observations individuelles montrent que les rats maigrissent proportionnellement à la restriction spontanée de leur prise de nourriture. Ainsi, l'anorexie du rat devenu hypercapnique justifie à elle seule l'amaigrissement.

L'origine de cette anorexie reste difficile à expliquer. Certes, l'activité réduite de l'animal hypercapnique liée à la carbonarcose est peut-être un facteur responsable. On peut se demander également si l'hyperventilation secondaire à l'hypercarboxie ne joue par un rôle. Nous avons constaté à plusieurs reprises que certains rats interrompaient fréquemment leur repas et hyperventilaient durant ces pauses. Ainsi, il existerait chez le rat une dyspnée post-prandiale que l'on peut rapprocher de celle observée chez les grands insuffisants respiratoires et qui s'accompagne d'ailleurs assez souvent d'un amaigrissement (SADOUL et coll., 1963).

Cependant, les troubles digestifs ne peuvent être écartés formellement. On sait que des hémorragies digestives sont fréquemment observées chez les insuffisants respiratoires en décompensation respiratoire aiguë (SADOUL et coll., 1961; E. BERNARD et coll., 1964; ELLISON et coll., 1964; C. VOISIN et coll., 1966). Ce fait clinique nous a conduit avec F. GUERRIN de Lille à étudier le rôle que pouvait jouer l'hypercapnie dans l'apparition des lésions gastriques. Un séjour de 24 à 48 heures à 10 p. 100 de gaz carbonique provoquait chez le rat une congestion de la muqueuse gastrique avec des ponctuations hémorragiques (aspect en coups d'épingle): Dans les cas les plus graves, il existait des dépôts pultacés, un liquide d'aspect hématique dans la cavité gastrique et parfois des érosions ou même de petites ulcérations de la muqueuse glandulaire de l'estomac.

Hypercapnie tissulaire.

Compte tenu des taux inspiratoires de CO_2 utilisés, l'hypercapnie tissulaire ne peut être mise en doute. Au cours d'une hypercarboxie à faible concentration, l'hyperventilation pourrait maintenir la pression partielle de CO_2 à sa valeur normale dans le sang. Toutefois, au bout d'un certain temps, il se produirait une acclimatation et SCHAEFER a observé chez l'homme une élévation du CO_2 sanguin pour des taux inspiratoires de CO_2 voisins de 1,5 p. 100. En effet, l'hyperventilation primitive disparaît. Un régime ventilatoire stable s'installe. La régulation n'est pas uniquement ventilatoire, elle entraîne des réactions rénales qui ont été étudiées par LEVITIN et collaborateurs, comme par SCHWARTZ et son groupe. Dans les expériences rapportées ici, le taux important de CO_2 inhalé garantissait l'installation d'une hypercapnie au niveau des tissus.

L'organisme de rat ayant vécu en hypercarboxie contient plus de gaz carbonique qu'un rat normal comme le démontrent trois faits essentiels.

La teneur en gaz carbonique, c'est-à-dire le CO_2 total rapporté au gramme de poids corporel, augmente avec la durée d'exposition.

La teneur corporelle des animaux exposés à une concentration de CO_2 ambiant inférieure à 7 p. 100 est en général inférieure à celle des rats exposés à plus de 7 p. 100 de CO_2 . Ceci suggère un enrichissement effectif de l'organisme en gaz carbonique, enrichissement qu'il faut distinguer de l'augmentation de CO_2 /Poids dû à l'amaigrissement.

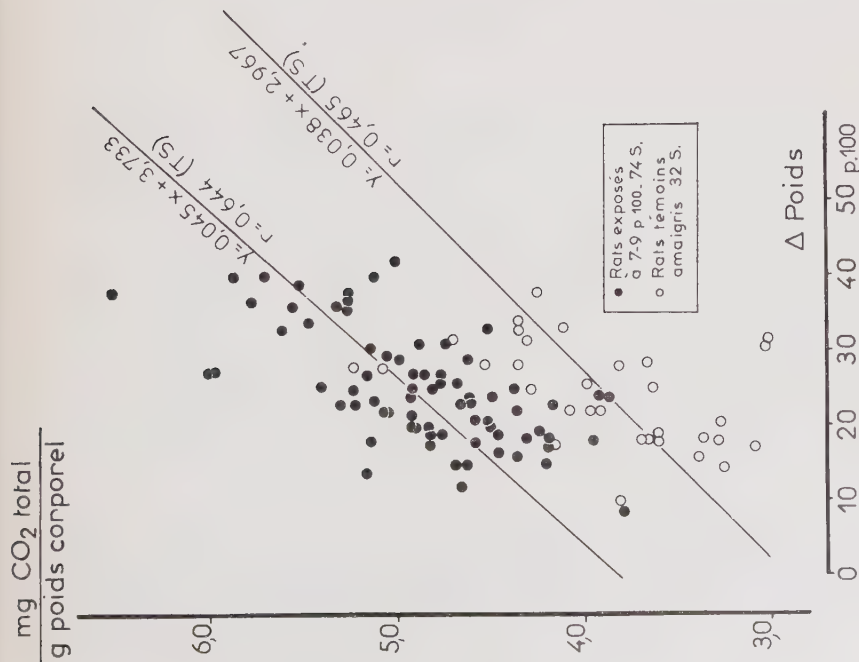


Fig. 9.

La teneur corporelle en CO₂ des rats hypercapniques se différencie de celle de rats amaigris à l'air libre et ceci pour une baisse de poids comparable.

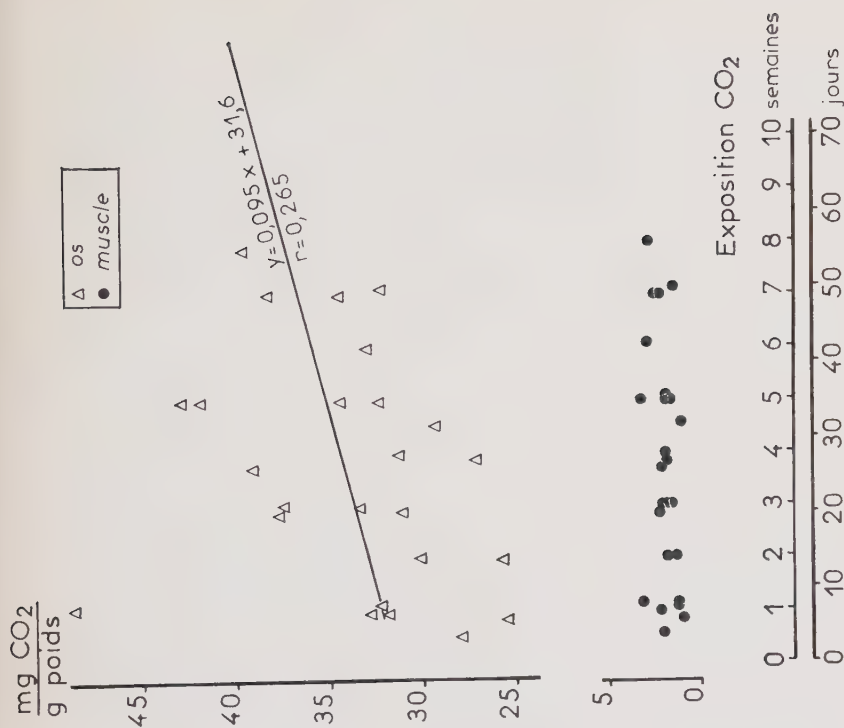


Fig. 10.

Comparativement aux autres organes (ici le muscle squelettique), l'os s'enrichit nettement en CO₂ au cours de l'hypercapnie. Un résultat (CO₂ mg/g = 48,9 à 8 jours) paraît aberrant.

En effet, l'augmentation de la teneur en CO_2 peut être la résultante de deux phénomènes : un enrichissement en CO_2 et une baisse de poids. La teneur corporelle est effectivement augmentée par l'amaigrissement chez les rats normocapniques ($p < 0,01$) ; pour une chute pondérale allant de 0 à 19,9 p. 100 du poids initial, elle atteint une valeur moyenne de 3,53 mg CO_2 par gramme, soit 7,3 p. 100 de plus que chez les animaux témoins et pour des rats ayant perdu 20 à 40 p. 100 de leur poids, la teneur corporelle moyenne est de 4,09 mg CO_2 par gramme. Par contre, chez les sujets hypercapniques exposés à 7 - 9 p. 100 de CO_2 , ayant une perte de poids inférieure à 20 p. 100, les teneurs corporelles sont nettement plus élevées puisque les moyennes s'établissent à 4,53 mg CO_2 par gramme et à 5,00 mg CO_2 par gramme pour ceux ayant perdu de 20 à 40 p. 100. A la majoration de CO_2 /Poids due à l'amaigrissement, se superpose donc un authentique enrichissement en CO_2 (30 p. 100 environ) de l'organisme.

La figure 9 compare la teneur corporelle en gaz carbonique des rats hypercapniques à celle d'animaux amaigris ayant vécu à l'air libre. Pour une perte de poids comparable, l'organisme du rat hypercapnique est significativement plus riche en CO_2 que celui du rat normocapnique amaigri.

Quoique les études portant sur les diverses parties de l'organisme aient donné des résultats assez dispersés et aient porté sur un petit nombre d'animaux, il est intéressant de considérer si certains organes stockent préférentiellement le CO_2 . Les variations enregistrées pour la masse viscérale dans son ensemble comme pour le foie, l'encéphale, le muscle squelettique, le rein et le muscle cardiaque ne sont pas significatives. Par contre, la teneur en CO_2 de la carcasse et des os augmente nettement (Tabl. 1, fig. 7 et 10).

En ce qui concerne la carcasse, on ne peut oublier que le rat hypercapnique a généralement beaucoup maigri et qu'il doit être comparé à un rat n'ayant que la peau et les os. Dans la carcasse, le squelette représente pondéralement une part plus importante que chez l'animal non amaigri. Par contre, le poids relatif de la carcasse par rapport au poids du corps ne change pas significativement au cours de l'amaigrissement. L'augmentation de la teneur en CO_2 de la carcasse au cours de l'amaigrissement est nette et certains animaux hypercapniques présentent des teneurs de CO_2 de leur carcasse qui sont semblables à ceux observés chez des animaux amaigris ou même normaux. Ce phénomène est avant tout observé chez des sujets n'ayant été soumis qu'à cinq ou huit jours d'exposition au gaz carbonique. Quoi qu'il en soit, l'augmentation de la teneur de CO_2 dans la carcasse du rat ayant vécu en hypercapnie correspond bien à un enrichissement réel en CO_2 .

En ce qui concerne les os, la teneur en CO_2 augmente nettement avec la durée d'exposition au CO_2 ainsi que le montre la figure 10. Elle n'est pas significativement différente de celle mesurée dans notre lot témoins. Par contre (fig. 10), si l'on met à part un résultat qui semble aberrant (48,9 mg par g, 8 jours), la teneur en CO_2 de l'os augmente significati-

vement ($0,02 > p > 0,01$) avec la durée de l'hypercarboxie. La teneur en CO₂ de l'os est déjà importante chez le rat normal, par conséquent au cours de l'hypercapnie chronique, on peut affirmer que le CO₂ est stocké avant tout au niveau de l'os. Ceci recoupe d'ailleurs les constatations faites par SCHAEFER d'une façon indirecte à partir des dosages ioniques dans le sang et l'urine des sujets exposés pendant plusieurs semaines à une concentration de CO₂ de 1,5 p. 100. FREEMANN et coll. ont également mis en évidence la majoration de gaz carbonique dans l'os : après 28 jours d'exposition au CO₂, l'os fixerait 32 p. 100 de la quantité totale du CO₂ exogène retenu par l'organisme.

CONCLUSIONS

Des recherches faites sur 195 rats placés à des taux d'hypercarboxie variant de 4 à 9 p. 100 durant 2 à 11 semaines permettent de tirer un certain nombre de conclusions :

L'amaigrissement est un fait constamment observé pour tous les taux d'hypercarboxie considérés et il se produit précocement. Chez certains animaux, il est observé jusqu'à la onzième semaine. La perte de poids atteint chez les animaux les plus lourds jusqu'à 40 p. 100 du poids initial. Cette perte de poids, indiscutablement secondaire à l'hypercarboxie, peut être attribuée à l'anorexie. En effet, la ration alimentaire prise spontanément par l'animal diminue de 25 à 60 p. 100. Le mécanisme de cette anorexie reste à élucider et les hypothèses que l'on peut formuler à ce sujet sont nombreuses. Cependant, il est indiscutable que le tube digestif présente des modifications anatomiques.

L'exposition au CO₂ entraîne une hypercapnie sanguine et tissulaire, l'organisme de rats placés dans une atmosphère renfermant 7 à 9 p. 100 de CO₂ contient environ 30 p. 100 de plus de CO₂ que celui des rats amaigris, ayant toujours vécu à l'air libre.

Le CO₂ se fixe électivement sur la carcasse et sur l'os. L'enrichissement notable en CO₂ de l'os montre que le squelette constitue le principal réservoir du CO₂ dans l'organisme.

Les travaux présentés dans cet exposé ainsi que les publications du même auteur cités dans la bibliographie font l'objet d'une thèse de doctorat qui doit être soutenue à la Faculté des Sciences (Professeur GAYET président).

Ces recherches ont été poursuivies dans le Groupe de Recherches de Physio-Pathologie Respiratoire de l'I.N.S.E.R.M. - U 14 - Nancy (Pr. SADOUL).

Travail ayant bénéficié de l'aide financière de la Haute Autorité de la Communauté Européenne du Charbon et de l'Acier.

BIBLIOGRAPHIE

- ANREP (G.-V.), AYADI (M.-S.), TALAAT (M.). — A method for determination of carbon dioxide applicable to blood and tissues.
J. Physiol. Londres, 1936, **86**, 153-161.

- BARBOUR (J.-H.), SEEVERS (M.-H.). — A comparison of the acute and chronic toxicity of carbon dioxide with a special reference to its narcotic action.
J. Pharmacol. Exper. Therap., 1943, **78**, 11-21.
- BERNARD (E.), ISRAEL (L.), RENAULT (P.), DARCET (P.), LEGLAND (P.). — Dix-huit observations d'hémorragies digestives au cours de poussées aiguës d'insuffisance respiratoire. Discussion étiopathogénique.
J. Franç. Méd. Chir. Thor., 1964, **18**, 189-193.
- BROCKLENHURST (R.-J.), HENDERSON (Y.). — The buffering of tissues as indicated by the CO_2 capacity of blood.
J. Biol. Chem., 1927, **72**, 665-675.
- CONWAY (E.-J.), FEARON (P.-J.). — The acid labile CO_2 in mammalian muscle and the pH of the muscle fibre.
J. Physiol., 1944, **103**, 274-289.
- DANIELSON (I.-S.), HASTINGS (A.-B.). — A method for determining tissues carbon dioxide.
J. Biol. Chem., 1939, **130**, 349-356.
- ELLISON (L.-T.), ELLISON (R.-G.), CARTER (C.-H.), DANIELL (D.), MOORE (V.-A.). — The rôle of hypercapnia and hypoxia in the etiology of peptic ulcerations in patients with chronic obstruction pulmonary emphysema.
Amer. Rev. Resp. Dis., 1964, **89**, 909-916.
- FARHI (L.-E.), RAHN (H.). — The gas stores of the body and the unsteady state.
J. Appl. Physiol., 1955, **7**, 472-484.
- FENN (W.-O.). — The carbon dioxide dissociation curve of nerve and muscle.
Amer. J. Physiol., 1928, b **85**, 207-223.
- FERGUSON (J.-K.-W.), IRVING (L.). — Method to determine carbon dioxide content of muscle.
J. Biol. Chem., 1929, **84**, 143-153.
- FERGUSON (J.-K.-W.), IRVING (L.), PLEWES (F.-B.). — The source of expired CO_2 in decapitated eviscerated cats.
J. Physiol., 1929-1930, **68**, 265-276.
- FREEMAN (F.H.), FENN (W.O.). — Changes in carbon dioxide stores of rats due to atmospheres low in oxygen or high in carbon dioxide.
Amer. J. Physiol., 1953, **174**, 422-430.
- JENNINGS (D.-B.). — Storage of carbon dioxide in the exercising dog breathing 5 % carbon dioxide in air.
The Physiologist, 1966, **9**, 212.
- KROGH (A.), REHBERG (P.-B.). CO_2 Bestimmung in Flüssigkeiten und Gewebe durch Mikrotitration.
Biochem Ztsch., 1930, **225**, 177-182.
- LEVITIN (H.), EPSTEIN (F.-H.). — Effect of potassium deficiency on renal response to respiratory acidosis.
Amer. J. Physiol., 1961, **200**, 1148-1150.
- REICHART (E.). — Mesure du CO_2 total de l'organisme du rat normal par une méthode extractive et titrimétrique.
C.R. Soc. Biol. (Paris), 1965, **159**, 2240-2243.
- REICHART (E.). — Variations du CO_2 total de l'organisme chez le rat albinos placé en hypercarboxie de longue durée.
C.R. Soc. Biol. (Paris), 1966, **160**, 1671-1674.
- REICHART (E.). — Description d'une enceinte pour hypercapnie prolongée chez les petits animaux.
Path. Biol., 1966, **14**, 719-721.
- REICHART (E.). — Hypercapnie chronique expérimentale chez le rat.
in Session d'Enseignement post-universitaire d'automne. Nancy, 23-29 oct. 1966, pp. 69-73.
- ROSENBAUM (J.-D.). — The influence of alterations in acid base balance upon transfers of carbon dioxide on bicarbonate in man.
J. Clin. Invest., 1942, **21**, 735-746.

- SADOUL (P.), LARCAN (A.), STREIFF (F.), PICARD (J.-M.), SAUNIER (C.), JEANIN (C.). — L'association insuffisance respiratoire aiguë-ulcère gastroduodénal hémorragique.
Rev. Méd. Nancy, 1961, **86**, 960-967.
- SADOUL (P.), CHERRIER (F.), COLLOMBIER (N.), CARBONNEL (S.). — Tableau clinique de l'hypoxie et de l'hypercapnie. Signes cliniques de l'insuffisance respiratoire grave, in vol. 5^e Série Entretiens de Physio-Pathologie Respiratoire, Nancy, 1962, pp. 159-192.
- SCHAEFER (K.-E.). — Atmung und Säure Basengleichgewicht beim Laugdauernden Aufenthalt in 3 % CO₂.
Pflügers Arch. Ges. Physiol., 1949, **251**, 689-715.
- SCHAEFER (K.-E.), STORR (H.), SCHEER (K.). — Laugdauernde Einwirkung verschiedenen höher CO₂-Konzentrationen auf Meerschweinchen.
Pflügers Arch. Ges. Physiol., 1949, **251**, 741-764.
- SCHWARTZ (W.-B.), SILVERMAN (L.). — A large environmental chamber for the study of hypercapnia and hypoxia.
J. Appl. Physiol., 1965, **20**, 767-774.
- STUFFEL (M.). — Action du gaz carbonique sur la thermorégulation. Etude expérimentale chez le rat blanc.
Thèse Paris 1959, 126 pages.
- STUFFEL (M.). — Action du gaz carbonique sur la thermorégulation du rat blanc. I - Effets de différentes concentrations de CO₂ à diverses températures.
J. Physiol. (Paris), 1960, **52**, 575-606.
- VAN SLYKE (D.-D.), NEIL (J.-M.). — The determination of gases in blood and other solution by vacuum extraction and manometric measurement.
J. Biol. Chem., 1924, **61**, 523-540.
- VOISIN (C.), GUERRIN (F.), WATTEL (F.), NEIDHARDT (A.), GOSSELIN (B.). — Les hémorragies gastroduodénales en cours de réanimation chez l'insuffisant respiratoire chronique en décompensation.
Acta Gastro Enterologica Belgica, 1966, **29**, 515-528.

RÉSUMÉ

Des rats vivent pendant 2 à 11 semaines dans une atmosphère riche de CO₂ (7-9 %). Une baisse de poids corporel est visible dès la première semaine et se poursuit tant que dure l'exposition au CO₂. Cet amaigrissement (jusqu'à 40 % du poids initial) consécutif à une perte d'appétit est lié à la présence de CO₂ dans l'atmosphère ambiante.

La teneur corporelle en CO₂ croît avec la durée d'exposition au CO₂. L'enrichissement en CO₂ est manifeste dans divers organes, tout particulièrement dans l'os.

Les décès imputables à l'hypercapnie induite sont rares (3 %).

ZUSAMMENFASSUNG

Ratten leben 2 bis 11 Wochen lang in einer CO₂ reichen Luft (7-9 %). Eine Abnahme des Körpergewichtes ist schon nach der ersten Woche sichtbar und hält während der Dauer der Exposition an CO₂ an. Diese Abmagerung (bis zu 40 % des Anfanggewichtes) als Folge eines Appetitverlustes ist mit dem Vorhandensein von CO₂ in der Umweltsluft verbunden.

Der CO₂-Gehalt im Körper steigt mit der Expositionsdauer an CO₂. Die Anreicherung an CO₂ zeigt sich in den verschiedenen Organen, ganz besonders in den Knochen.

Todesfälle, die einer induzierten Hyperkapnie zuzuschreiben sind, sind selten.

SUMMARY

Rats live for 2-11 weeks in a carbon dioxide rich atmosphere (7-9 p. 100). A decrease in body weight is observed from first week and continues as long as the exposure to CO_2 is maintained. This loss of weight (up to 40 p. 100 of the initial body weight), the result of a loss of appetite, is linked with the presence of CO_2 in the ambient air.

The CO_2 content increases with the time of exposure. Enrichment in CO_2 takes place in various organs, especially in the bones.

Mortality attributed to the imposed hypercapnia are rare (3 p. 100).

RESUMEN

Durante un periodo que oscila entre dos y once semanas, las ratas viven en una atmosfera rica en CO_2 (7-9 %). Una disminucion del peso corporal se observa desde la primera semana y se prolonga mientras dure la exposicion al CO_2 . Este adelgazamiento (de hasta 40 p. 100 del peso inicial) consecutivo a una pérdida del apetito esta ligado a la presencia de CO_2 en la atmósfera ambiente.

El contenido corporal de CO_2 aumenta con la duracion de la exposition del CO_2 . La rigueza de CO_2 en diversos organos es manifesta, particularmente en los huesos.

Las muertes, ocasionadas por la hypercapnia provocada son raras (3 p. 100).
